

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2558

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้
2. โครงการวิจัย การวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลอื่นๆที่มีศักยภาพ
 กิจกรรมที่ 1 การปรับปรุงกล้วยไม้
 กิจกรรมย่อยที่ 1.7 การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ดินสกุลคาแลนเธ
3. ชื่อการทดลองที่ 1.7.1 การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ดินสกุลคาแลนเธโดยการผสมพันธุ์
4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นายวราพงษ์ ภิระบรรณ	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร
ผู้ร่วมงาน	นางสาววาสนา สุภาพรหม	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร
	นางวราภรณ์ อุดมดี	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก
	นางธัญพร งามงอน	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูง เพชรบูรณ์
	นายเสงี่ยม แจ่มจำรูญ	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

5. บทคัดย่อ

การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลคาแลนเธโดยการผสมพันธุ์ เพื่อได้กล้วยไม้สกุลคาแลนเธพันธุ์ใหม่ที่มีสีสันสวยสะดุดตา สำหรับใช้ในการผลิตกล้วยไม้กระถางพันธุ์การค้าและให้เกิดความหลากหลายทางสายพันธุ์ของกล้วยไม้สกุลคาแลนเธ ตั้งแต่ปี 2555-2558 โดยการรวบรวมและคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ของกล้วยไม้สกุลคาแลนเธ และสกุลเอื้องพร้าว ผสมพันธุ์กล้วยไม้โดยการผสมตัวเอง ผสมข้ามชนิดและผสมข้ามสกุล นำฝักไปเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ดัดแปลง เพาะเลี้ยงจนเมล็ดงอก เจริญเป็นโปรโตคอร์มและต้นกล้า นำออกปลูกในโรงเรือนและเจริญเติบโตเป็นต้นลูกผสมกล้วยไม้สกุลคาแลนเธ พบว่าได้กล้วยไม้ผสมตัวเอง 2 ชนิด ได้แก่ *C. rubens* (CRU 06) และ *C. vestita* (CVT 01) กล้วยไม้ผสมข้ามชนิด 5 คู่ผสม ได้แก่ ได้แก่ *C. rubens* x *C. rosea*, *C. rosea* x *C. rubens*, *C. vestita* x *C. cardioglossa*, *C. cardioglossa* x *C. vestita* และ *C. sylvatica* x *C. vestita* และกล้วยไม้ผสมข้ามสกุล 1 คู่ผสม ได้แก่ *C. sylvatica* x *P. tankervilleae* var. *alba* ฝักกล้วยไม้ที่นำมาเพาะเลี้ยงมีอายุ 60-80 วัน เมล็ดงอกเป็นจุดสีเขียวหลังเพาะเลี้ยงประมาณ 40-70 วัน เมล็ดพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่สมบูรณ์หลังจากเมล็ดงอก 40-60 วัน ต้นอ่อนเจริญเป็นต้นและเกิดใบอ่อนหลังจากย้ายโปรโตคอร์ม 60-80 วัน ต้นอ่อนเจริญเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์เกิดหัวและใบจริงประมาณ 180-200 วัน จึงนำ

ออกปลูกในโรงเรือน แต่ทยอยตายเรื่อยๆ จนกว่าต้นจะแข็งแรง ต้นกล้าลูกผสมกล้วยไม้สกุลคาแลนเธอายุประมาณ 1-3 เดือน มีใบ 2-4 ใบ ความกว้างใบ 1.2-1.9 ซม. ความยาวใบ 4.5-6.9 ซม. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.4 ซม. ความสูงต้นรวบใบ 7.8-9.5 ซม. และความกว้างทรงพุ่ม 6.7-8.4 ซม. ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาการเจริญเติบโตและการออกดอกของลูกผสมกล้วยไม้สกุลคาแลนเธต่อ เพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมและได้ลูกผสมกล้วยไม้สกุลคาแลนเธที่มีลักษณะดีและมีความหลากหลายทางสายพันธุ์สำหรับการใช้ในการผลิตกล้วยไม้กระถางพันธุ์การค้า

6. คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชส่งออกที่สำคัญพืชหนึ่งของประเทศไทยที่ทำรายได้สูงและปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี ตลาดส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ ญี่ปุ่น สหภาพยุโรป และสหรัฐอเมริกา แม้การส่งออกกล้วยไม้ไทยจะเพิ่มมูลค่ามากขึ้นในแต่ละปี แต่ยังมีข้อจำกัดในเรื่องขาดการพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้ใหม่ ๆ อย่างต่อเนื่อง ทำให้ไม่สามารถสร้างความหลากหลายให้สอดคล้องกับความต้องการของตลาดได้ ประเทศไทยถือเป็นศูนย์กลางของกล้วยไม้ที่มีความหลากหลายทางสายพันธุ์ เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญงอกงามของกล้วยไม้ อีกทั้งกล้วยไม้ที่พบในประเทศไทยมีลักษณะเด่นเป็นเอกลักษณ์ แตกต่างจากกล้วยไม้ในภูมิภาคอื่น การผสมพันธุ์พืชเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการสร้างพันธุ์ใหม่เพื่อให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะดีและลักษณะที่แปลกไปจากพ่อแม่ การผสมพันธุ์กล้วยไม้ เพื่อจุดประสงค์เดียวกัน คือการสร้างพันธุ์ใหม่เพื่อการใช้ประโยชน์ แต่นอกจากจะเป็นการสร้างพันธุ์ใหม่แล้ว การผสมพันธุ์กล้วยไม้ยังช่วยให้ได้ฝักและเมล็ดสำหรับการขยายพันธุ์ ซึ่งการขยายพันธุ์วิธีนี้เป็นวิธีการเพิ่มปริมาณต้นที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าการตัดแยกกล้าและการตัดยอด (อรอนงค์, 2553) การผสมข้ามทำให้เกิดการกระจายตัวทางพันธุกรรมในลักษณะต่าง ๆ ของลูกผสม และยังสามารถรวมเอาลักษณะอื่น ๆ ที่ไม่ปรากฏในพ่อแม่ไว้ด้วย จึงมีโอกาที่จะได้ลูกผสมที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม และมีลักษณะหรือคุณภาพตามความต้องการ ทำให้สามารถคัดเลือกลักษณะที่พึงประสงค์มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ได้ ซึ่งในธรรมชาติการผสมข้ามชนิดเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดวิวัฒนาการในพืชด้วย (ศิวัชร, 2554) ซึ่งกล้วยไม้สกุลคาแลนเธถือว่าเป็นสกุลหนึ่งที่น่าคิดว่าจะมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นไม้กระถางชนิดใหม่ จึงได้เล็งเห็นถึงความเป็นไปได้ในการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้เพื่อสร้างสายพันธุ์การส่งออกให้มีความหลากหลายมากขึ้น มีสีสันสวยงามสะดุดตาเพิ่มมากขึ้น มีขนาดของดอกหลายขนาด โดยคำนึงถึงความแปลกใหม่และความต้องการของตลาดเป็นสำคัญ

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.1 วัสดุทดลอง คือ กล้วยไม้ดินสกุลคาแลนเธ ได้แก่ *Calanthe cardioglossa*, *Calanthe rosea*, *Calanthe rubens*, *Calanthe vestita* และ *Calanthe sylvatica* และกล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าว ได้แก่ *Phaius tankervilleae*, *Phaius tankervilleae* var. *alba* และ *Phaius mishmensis*

1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมพันธุ์และการติดฝัก ได้แก่ ไม้จิ้มฟัน, ป้าย (Tag), ดินสอ, มีด, ถุงซิปล, สมุด

บันทึก และกล้องถ่ายภาพดิจิทัล

1.3 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า, เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง, กระจกบด, บีกเกอร์, ขวดใส่สารละลายเข้มข้น, แท่งแก้วคนสาร, ซ้อนตักสาร, ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, หม้อนึ่งความดัน, งานแก้ว, มีดผ่าตัด, ปากคืบ และตะเกียงแอลกอฮอล์

1.3.2 สารเคมีที่ใช้สำหรับทำความสะอาด ได้แก่ น้ำยาล้างจาน, 95% เอทิลแอลกอฮอล์ และ 70% เอทิลแอลกอฮอล์

1.3.3 สารเคมีที่ใช้สำหรับเตรียมอาหาร ได้แก่ สารเคมี (ภาคผนวกตารางที่ 1) น้ำตาล, ผงวุ้น และ peptone

1.3.4 สารสกัดจากธรรมชาติ ได้แก่ น้ำมะพร้าวและกล้วยหอมบด

1.3.5 สารควบคุมการเจริญเติบโต คือ BA (6-benzyladenine) และ NAA (1-Naphthaleneacetic acid)

1.4 วัสดุที่ใช้สำหรับการอนุบาลและปลูกต้นกล้วยไม้ ได้แก่ ตะกร้าพลาสติก, ถังพลาสติก, กระจกพลาสติกสีดำ, ขุยมะพร้าว, กาบมะพร้าวสับ และปุ๋ยละลายช้า

วิธีการ

1.1 การวางแผนการทดลอง

ไม่มีการวางแผนการทดลอง

1.2 การปฏิบัติการทดลอง

1) รวบรวมและศึกษาลักษณะประจำพันธุ์กล้วยไม้สกุลคาแลนเด สำหรับใช้เป็นพ่อ-แม่พันธุ์ และคัดเลือกคู่ผสมพ่อ-แม่พันธุ์ ที่มีลักษณะดี เช่น สีดอกสด พอร์มดอกสวย

2) ทำการผสมพันธุ์กล้วยไม้แบบข้ามชนิด (species) ทำในตอนเช้าช่วงเวลา 8.00-10.00 น. หรือในช่วงที่อากาศไม่ร้อนจัด เพราะอากาศที่ร้อนจัด ทำให้เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียแห้งได้ เมื่อสามารถเลือกดอกที่จะใช้เป็นพ่อและแม่พันธุ์ได้แล้ว และระยะเวลาเหมาะสมที่จะทำการถ่ายละอองเกสร สามารถทำการถ่ายละอองเกสรได้โดยใช้ไม้จิ้มฟันสะอาดเช็ดฝาปิดเกสรเพศผู้ให้เกสรเพศผู้หลุดออกมา แล้วแตะเกสรเพศผู้ไปวางบนเกสรเพศเมีย ในบางครั้งถ้าเกสรเพศผู้ยึดติดได้ยาก ให้เอาปลายไม้จิ้มฟันไปแตะที่แองเกสรเพศเมีก่อน แล้วนำมาแตะที่เกสรเพศผู้ทำให้เกสรเพศผู้ยึดติดกับปลายไม้จิ้มฟันได้ดีขึ้น ทำป้ายแขวนไว้ที่ก้านดอกย่อย โดยเขียนชื่อแม่พันธุ์ x พ่อพันธุ์ วันเดือนปีที่ทำการผสม ในบางครั้งใช้เป็น code ที่ผู้ผสมพันธุ์ได้บันทึกไว้

3) หลังจากผสมเกสรได้ประมาณ 7 วัน สามารถตรวจสอบได้ว่า การผสมพันธุ์กล้วยไม้ทำได้สำเร็จหรือไม่ โดยดูจากการขยายของเส้าเกสร ถ้าการผสมเกิดขึ้นได้ เส้าเกสรจะมีการขยายขนาดและต่อมาจะสังเกตเห็นว่าส่วนของรังไข่มีการขยายขนาดไปเรื่อยๆ เมื่อติดฝักควรดูแลรักษาจนกระทั่งฝักแก่ จึงนำไปเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

4) การนำฝักกล้วยไม้มาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

4.1) อาหารสังเคราะห์สำหรับเพาะเมล็ดสูตร VW + น้ำมะพร้าว 150 ml/L วิธีการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร VW ในปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยเทน้ำกลั่นเล็กน้อยลงในปิកเกอร์ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมสารละลายของอาหารสูตร VW โดยเติมสารละลาย A 100 ml สารละลาย B 5 ml และสารละลาย C 1 ml เติมน้ำมะพร้าว 150 ml เติมน้ำตาล 20 กรัม ละลายสารให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารให้เป็น 4.8 เติมน้ำ 7.0 กรัม ต้มจนอุ่นละลายแล้วบรรจุลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ขวดละ 30 มล. ปิดฝาให้สนิท นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้อาหารเย็นและแข็งจึงนำไปใช้ทำการทดลองได้

4.2) การเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ โดยนำฝักกล้วยไม้มาทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน จากนั้นล้างน้ำให้สะอาด ฆ่าเชื้อฝักกล้วยไม้โดยจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วลนไป 2 ครั้ง วางฝักกล้วยไม้บนจานแก้ว ตัดส่วนหัวและส่วนปลายของฝักทิ้ง ผ่าตรงกลางฝักตามแนวยาว ใช้มีดและปากคีบเขี่ยเมล็ดลงบนจานแก้ว แล้วนำเมล็ดลงเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ตามสูตรที่เตรียมไว้ โดยให้เมล็ดกระจายอยู่ทั่วผิวหน้าอาหาร นำไปวางไว้ในที่มีดในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 25°C เพื่อชักนำให้เกิดโปรโตคอร์ม

4.3) เมื่อเมล็ดพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม ย้ายเปลี่ยนลงอาหารสังเคราะห์สูตร VW + peptone 2 g/L + BA 1ml/L + NAA 1 ml/L เพื่อชักนำให้เกิดต้น เมื่อโปรโตคอร์มเจริญเป็นต้นมีใบชัดเจน ย้ายเปลี่ยนลงอาหารสังเคราะห์ใหม่สูตรเดิมอีกครั้ง เพื่อให้เจริญเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ สังเกตและบันทึกการเจริญของต้นกล้าเมื่อต้นกล้ามีรากพอสมควรนำต้นกล้าออกจากขวดเพื่อปลูกในเรือนเพาะชำ

5) การนำต้นกล้าออกปลูกอนุบาล โดยนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกมาวางในอุณหภูมิห้อง 2-3 วัน จากนั้นนำต้นกล้าออกจากขวด ล้างรากออกให้สะอาด จุ่มสารป้องกันโรครากและโคนเน่า ปลูกต้นกล้าลงในตะกร้าพลาสติกที่ใช้กาบมะพร้าวสับและขุยมะพร้าวเป็นวัสดุปลูก นำตะกร้าใส่ลงในถุงพลาสติกเพื่อปรับสภาพเป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นนำออกปลูกลงกระถางพลาสติกสีดำที่ใช้กาบมะพร้าวสับเป็นวัสดุปลูกและเปลี่ยนขนาดกระถางตามการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ ดูแลรักษาต้นกล้วยไม้โดยการรดน้ำ ฟันปุ๋ยเกล็ด ใส่ปุ๋ยละลายช้า ฟันสารกำจัดแมลงศัตรูพืช และกำจัดวัชพืช

6) การบันทึกข้อมูล สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเจริญในแต่ละช่วง ลักษณะสี ขนาดของโปรโตคอร์มและการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

6.1) การเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงรวบใบ, ความกว้างทรงพุ่ม, ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น, จำนวนใบ, ความกว้างและความยาวของใบ)

6.2) คุณภาพของดอก ได้แก่ ความยาวก้านช่อดอก, ความยาวช่อดอก, ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านช่อดอก, จำนวนดอก/ช่อ, สีดอก, ความกว้างดอก, ความยาวดอกและอายุการบานของดอก)

6.3) การระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืช

6.4) ข้อมูลอนุกรม

เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ตุลาคม 2555 สิ้นสุด กันยายน 2558

สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลคาแลนเธด้วยการผสมพันธุ์ ได้รวบรวมกล้วยไม้สกุลคาแลนเธ จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Calanthe cardioglossa*, *Calanthe rosea*, *Calanthe rubens*, *Calanthe vestita* และ *Calanthe sylvatica* และกล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าว จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Phaius tankervilleae*, *Phaius tankervilleae* var. *alba* และ *Phaius mishmensis* ทำการผสมตัวเองและผสมพันธุ์ทั้งข้ามชนิดและข้ามสกุล จากนั้นนำฝักลูกผสมมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจนเจริญเติบโตได้ต้นลูกผสมของกล้วยไม้ พบว่าการผสมตัวเองของ *C. rubens* จำนวน 4 เบอร์ และ *C. vestita* จำนวน 2 เบอร์ (ตารางที่ 1) มีจำนวนฝัก 5-10 ฝัก ฝักมีอายุ 60-80 วัน (ภาพที่ 1ก) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเมล็ดที่ฝักออกมาจากฝักมีลักษณะเป็นผงสีขาวอมเหลือง (ภาพที่ 1ค) ซึ่ง *C. rubens* 3 เบอร์ ได้แก่ CRU 04, 05 และ 06 และ *C. vestita* 1 เบอร์ ได้แก่ CVT 01 เมล็ดงอกเป็นจุดสีเขียวอ่อนทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารหลังเพาะเลี้ยงประมาณ 40-70 วัน (ภาพที่ 1ง) และเมล็ดเจริญเป็นโปรโตคอร์มที่สมบูรณ์หลังจากเมล็ดงอกประมาณ 40-50 วัน (ภาพที่ 1จ) แล้วจะย้ายโปรโตคอร์มลงในอาหารใหม่เพื่อให้เจริญเป็นต้นอ่อนที่มีใบจริง 2 ใบ ใช้เวลาประมาณ 60-70 วัน (ภาพที่ 1ฉ) แต่ *C. rubens* (CRU 07) และ *C. vestita* (CVT 02) เมล็ดที่ฝักออกมาจากฝักมีลักษณะเป็นผงสีขาวอมเหลือง แต่เมล็ดไม่เกิดการงอกหรือการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น จารุวรรณ (2550) ศึกษาการผสมเกสรแบบผสมตัวเองของ *Calanthe cardioglossa* Schltr. ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันคือ 8.00 9.00 10.00 11.00 16.00 และ 17.00 น. พบว่ามีอัตราการผสมติด 100 เปอร์เซ็นต์ทุกช่วงเวลา และอายุฝักตั้งแต่เริ่มติดฝักถึงฝักแตก 45 - 60 วัน และการผสมตัวเอง มีโอกาสที่จะได้ลูกผสมใหม่ที่ไม่เหมือนต้นแม่ทั้งหมด เพราะองค์ประกอบทางพันธุกรรมของกล้วยไม้จัดเป็น Highly heterozygous ทำให้เกิดการกระจายตัวของลักษณะต่าง ๆ มากมาย หรือ ถ้าเป็นการผสมข้ามต้นในชนิดเดียวกัน โอกาสที่จะได้ลูกผสมชนิดใหม่ที่มีลักษณะแปลกยิ่งสูงมากขึ้นอีก (ครรรชิต, 2550) การผสมข้ามชนิดของกล้วยไม้สกุลคาแลนเธ เกิดการผสมติดฝักจำนวน 9 คู่ผสม ได้แก่ *C. rubens* x *C. rosea*, *C. rosea* x *C. rubens*, *C. rubens* x *C. vestita*, *C. vestita* x *C. rubens*, *C. vestita* x *C. rosea*, *C. rosea* x *C. vestita*, *C. vestita* x *C. cardioglossa*, *C. cardioglossa* x *C. vestita*, *C. sylvatica* x *C. vestita*

(ตารางที่ 2) แต่ละคู่ผสมมีจำนวนฝัก 1-10 ฝัก ฝักมีอายุ 60-76 วัน (ภาพที่ 1ข) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมีคู่ผสม จำนวน 5 คู่ผสม ได้แก่ *C. rubens* x *C. rosea*, *C. rosea* x *C. rubens*, *C. vestita* x *C. cardioglossa*, *C. cardioglossa* x *C. vestita* และ *C. sylvatica* x *C. vestita* เมล็ดที่ฝักออกมาจากฝักมีลักษณะเป็นผงสีขาวอมเหลือง (ภาพที่ 1ค) เมล็ดงอกเป็นจุดสีเขียวอ่อนทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารหลังเพาะเลี้ยงประมาณ 37-68 วัน (ภาพที่ 1ง) และเมล็ดเจริญเป็นโปรโตคอร์มที่สมบูรณ์หลังจากเมล็ดงอกประมาณ 40-50 วัน (ภาพที่ 1จ) แล้วย้ายโปรโตคอร์มลงในอาหารใหม่เพื่อให้เจริญเป็นต้นอ่อนที่มีใบจริง 2 ใบ ใช้เวลาประมาณ 60-80 วัน (ภาพที่ 1ฉ) ส่วนคู่ผสมของ *C. rubens* x *C. vestita*, *C. vestita* x *C. rubens*, *C. vestita* x *C. rosea* และ *C. rosea* x *C. vestita* เมล็ดที่ฝักออกมาจากฝักมีลักษณะเป็นผงสีขาวอมเหลือง แต่เมล็ดไม่เกิดการงอกหรือการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อจึงจำเป็นต้องให้ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด เช่น อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง สภาพแวดล้อม และเมล็ดที่นำมาเพาะต้องมีอายุที่เหมาะสม ซึ่งกล้วยไม้แต่ละชนิดก็มีอายุที่เหมาะสมแตกต่างกันไป (ศิวัชร, 2554) การผสมข้ามสกุลระหว่างกล้วยไม้สกุลคาแลนเธและสกุลเอื้องพร้าว มีการผสมติดฝัก จำนวน 1 คู่ผสม ได้แก่ *C. sylvatica* x *P. tankervilleae* var. *alba* มีฝักจำนวน 4 ฝัก ฝักมีอายุ 76 วัน เมล็ดที่ฝักออกมาจากฝักมีลักษณะเป็นผงขาวอมสีเหลือง (ภาพที่ 1ค) เมล็ดงอกเป็นจุดสีเขียวอ่อนทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารหลังเพาะเลี้ยงประมาณ 68 วัน (ภาพที่ 1ง) และเมล็ดเจริญเป็นโปรโตคอร์มที่สมบูรณ์หลังจากเมล็ดงอกประมาณ 60 วัน (ภาพที่ 1จ) แล้วย้ายโปรโตคอร์มลงในอาหารใหม่เพื่อให้เจริญเป็นต้นอ่อนที่มีใบจริง 2 ใบ ใช้เวลาประมาณ 60 วัน (ภาพที่ 1ฉ) ซึ่งกล้วยไม้สกุลคาแลนเธที่ผสมตัวเอง ผสมข้ามชนิดและผสมข้ามสกุล เมื่อเกิดเป็นต้นอ่อนย้ายลงในอาหารใหม่เพื่อไม่ให้เจริญแออัดในขวดมากเกินไปและทำให้ต้นอ่อนเจริญเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ใช้เวลาประมาณ 180-200 วัน เพราะกล้วยไม้สกุลคาแลนเธต้องมีการสร้างหัวขึ้นมา รวมแล้วจะใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงลูกผสมกล้วยไม้เพื่อให้ได้ต้นกล้าประมาณ 1 ปี จึงนำออกปลูกในโรงเรือนได้ (ภาพที่ 2ก, 2ข และ 2ง) เมื่อเพาะเลี้ยงลูกผสมกล้วยไม้สกุลคาแลนเธจนได้ต้นที่เจริญสมบูรณ์ดี จึงนำออกปลูกในโรงเรือน นำกล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมตัวเอง ได้แก่ CRU 04 ออกปลูกจำนวน 50 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 20 ต้น, CRU 05 ออกปลูกจำนวน 70 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 30 ต้น, CRU 06 ออกปลูกจำนวน 300 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 200 ต้น และ CVT 01 ออกปลูกจำนวน 1,000 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 800 ต้น (ตารางที่ 3) กล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมข้ามชนิด ได้แก่ *C. rubens* x *C. rosea* ออกปลูกจำนวน 450 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 160 ต้น, *C. rosea* x *C. rubens* ออกปลูกจำนวน 40 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 20 ต้น, *C. vestita* x *C. cardioglossa* ออกปลูกจำนวน 100 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 70 ต้น, *C. cardioglossa* x *C. vestita* ออกปลูกจำนวน 100 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 60 ต้น และ *C. sylvatica* x *C. vestita* ออกปลูกจำนวน 500 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 150 ต้น กล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมข้ามสกุล ได้แก่ *C. sylvatica* x *P. tankervilleae* var. *alba* ออกปลูกจำนวน 700 ต้น หลังจากปลูก 1 เดือนเหลือ 400 ต้น (ตารางที่ 4 และภาพที่ 2จ) และมีการทยอยตายตลอดจนกว่าต้นจะแข็งแรง ทำให้ต้นลูกผสมกล้วยไม้ที่รอดตายและเจริญเติบโตเป็นต้นลูกผสมที่สมบูรณ์นั้นจะเหลือประมาณครึ่งหนึ่ง เนื่องจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่นำออกปลูกจะต้องปรับสภาพให้เข้ากับวัสดุปลูกและสภาพแวดล้อมใหม่ เมื่อสิ้นสุดการทดลองกล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมตัวเอง ได้แก่ CRU 06 มีจำนวน 120 ต้น และ

CVT 01 มีจำนวน 550 ต้น ซึ่งต้นกล้วยไม้ลูกผสมทั้งสองชนิดมีอายุ 1 เดือน มีใบ 2 ใบ ความกว้างใบ 1.2-1.3 ซม. ความยาวใบ 5.8-6.2 ซม. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.3 ซม. ความสูงต้นรวบใบ 7.8-8.0 ซม. และความกว้างทรงพุ่ม 6.7-7.0 ซม. กล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมข้ามชนิด ได้แก่ *C. rubens* x *C. rosea* มีจำนวน 100 ต้น, *C. rosea* x *C. rubens* มีจำนวน 15 ต้น, *C. vestita* x *C. cardioglossa* มีจำนวน 40 ต้น, *C. cardioglossa* x *C. vestita* มีจำนวน 40 ต้น และ *C. sylvatica* x *C. vestita* มีจำนวน 100 ต้น ซึ่งต้นกล้วยไม้ลูกผสมข้ามชนิดทั้ง 5 คู่ผสม อายุ 2-3 เดือน (ภาพที่ 2ค) มีใบ 2 ใบ ความกว้างใบ 1.4-1.9 ซม. ความยาวใบ 4.5-6.9 ซม. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.3-0.4 ซม. ความสูงต้นรวบใบ 8.3-9.5 ซม. และความกว้างทรงพุ่ม 6.8-8.4 ซม. (ตารางที่ 2) กล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมข้ามสกุล ได้แก่ *C. sylvatica* x *P. tankervilleae* var. *alba* มีจำนวน 150 ต้น อายุ 3 เดือน (ภาพที่ 2ฉ) มีใบ 4.4 ใบ ความกว้างใบ 1.8 ซม. ความยาวใบ 4.7 ซม. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.4 ซม. ความสูงต้นรวบใบ 8.9 ซม. และความกว้างทรงพุ่ม 8.3 ซม. (ตารางที่ 5) มาลินี (2553) ศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้าม และการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา มีส่วนสัมพันธ์กัน การศึกษาทางลักษณะทางสัณฐานวิทยา เป็นเพียงลักษณะภายนอก ลักษณะหนึ่งในการจำแนกหมู่ของกล้วยไม้ ดังนั้นการที่กล้วยไม้ ซึ่งมีลักษณะแตกต่างกันสามารถผสมข้ามได้หรือไม่ ขึ้นอยู่กับความใกล้ชิดทางสายพันธุ์มากกว่าลักษณะที่เหมือนหรือแตกต่างกัน ซึ่งความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมพันธุ์นั้น คู่ผสมต้องมีความคล้ายคลึงกันทางด้านพันธุกรรมมากที่สุด (อดิสร, 2547)

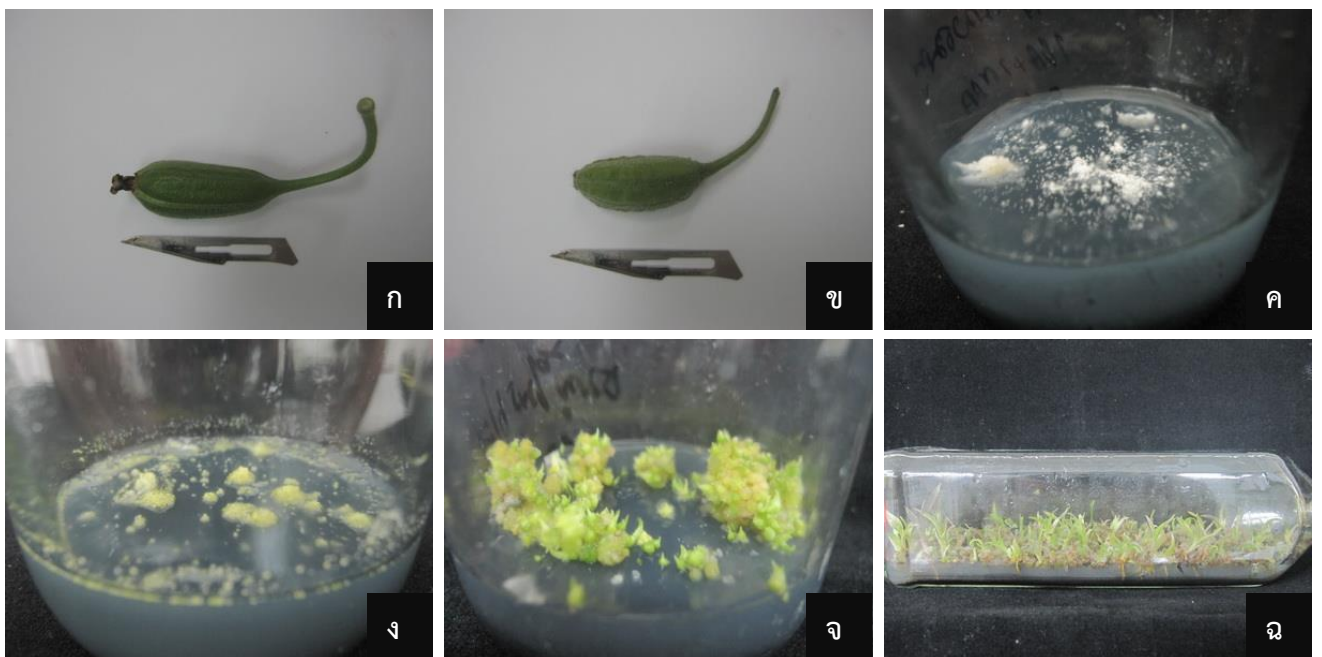
ตารางที่ 1 กล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมตัวเองที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ชนิดของกล้วยไม้สกุลคาแลนเธ	จำนวนฝัก (ฝัก)	อายุฝัก (วัน)	เมล็ดงอก (วัน)	การเจริญเป็นโปรโตคอร์ม (วัน)	การเจริญเป็นต้นอ่อน (วัน)
<i>C. ruben</i> (CRU 04)	5	60	70	50	70
<i>C. ruben</i> (CRU 05)	5	64	60	50	70
<i>C. ruben</i> (CRU 06)	10	70	60	50	70
<i>C. ruben</i> (CRU 07)	6	70	0	-	-
<i>C. vestita</i> (CVT 01)	8	63	37	40	60
<i>C. vestita</i> (CVT 02)	10	76	40	-	-

ตารางที่ 2 ลูกผสมข้ามชนิดและข้ามสกุลของกล้วยไม้สกุลคาแลนเธและสกุลเอื้องพร้าวที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

คู่ผสม	จำนวนฝัก (ฝัก)	อายุฝัก (วัน)	เมล็ดงอก (วัน)	การเจริญเป็นโปรโตคอร์ม (วัน)	การเจริญเป็นต้นอ่อน (วัน)
--------	----------------	---------------	----------------	------------------------------	---------------------------

<i>C. rubens</i> x <i>C. rosea</i>	12	70	45	40	60
<i>C. rosea</i> x <i>C. rubens</i>	10	70	42	40	60
<i>C. rubens</i> x <i>C. vestita</i>	2	65	0	-	-
<i>C. vestita</i> x <i>C. rubens</i>	3	60	0	-	-
<i>C. vestita</i> x <i>C. rosea</i>	3	64	0	-	-
<i>C. rosea</i> x <i>C. vestita</i>	2	70	0	-	-
<i>C. vestita</i> x <i>C. cardioglossa</i>	7	70	47	50	80
<i>C. cardioglossa</i> x <i>C. vestita</i>	12	63	37	50	80
<i>C. sylvatica</i> x <i>C. vestita</i>	1	76	68	50	80
<i>C. sylvatica</i> x <i>P. tankervilleae</i> var. <i>alba</i>	4	76	68	60	60



ภาพที่ 1 กล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมตัวเองและผสมข้ามชนิดที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ก: ฝักแก่กล้วยไม้ผสมตัวเอง ข: ฝักแก่กล้วยไม้ผสมข้ามชนิด ค: เมล็ดที่แก่เต็มที่ ง: ลักษณะการงอกของเมล็ด จ: ลักษณะการเกิดของโปรโตคอร์ม ฉ: ลักษณะของต้นอ่อนกล้วยไม้

ตารางที่ 3 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมตัวเองที่ปลูกในโรงเรือน

ชนิดของกล้วยไม้สกุลคาแลนเธ	จำนวนต้นออกปลูก (ต้น)	จำนวนต้นหลังปลูก 1 เดือน (ต้น)	จำนวนต้นที่เหลือ (ต้น)	อายุต้นกล้า
<i>C. ruben</i> (CRU 04)	50	20	0	-
<i>C. ruben</i> (CRU 05)	70	30	0	-
<i>C. ruben</i> (CRU 06)	300	200	120	1 เดือน
<i>C. vestita</i> (CVT 01)	1,000	800	550	1 เดือน

ตารางที่ 4 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลคาแลนเธผสมข้ามชนิดและข้ามสกุลที่ปลูกในโรงเรือน

คู่ผสม	จำนวนต้นออกปลูก (ต้น)	จำนวนต้นหลังปลูก 1 เดือน (ต้น)	จำนวนต้นที่เหลือ (ต้น)	อายุต้นกล้า
<i>C. rubens</i> x <i>C. rosea</i>	450	160	100	3 เดือน
<i>C. rosea</i> x <i>C. rubens</i>	40	20	15	3 เดือน
<i>C. vestita</i> x <i>C. cardioglossa</i>	100	70	40	2 เดือน
<i>C. cardioglossa</i> x <i>C. vestita</i>	100	60	40	2 เดือน
<i>C. sylvatica</i> x <i>C. vestita</i>	500	150	100	3 เดือน
<i>C. sylvatica</i> x <i>P. tankervilleae</i> var. <i>alba</i>	700	400	150	3 เดือน

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโตของลูกผสมกล้วยไม้สกุลคาแลนเท 8 คู่ผสม ที่ปลูกในโรงเรือน

คู่ผสม	จำนวนใบ (ใบ)	ความ กว้างใบ (ซม.)	ความยาว ใบ (ซม.)	ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลางลำต้น (ซม.)	ความสูงต้น รวบใบ (ซม.)	ความกว้าง ทรงพุ่ม (ซม.)
<i>C. ruben</i> (CRU 06)	2.0	1.2	5.8	0.3	7.8	6.7
<i>C. vestita</i> (CVT 01)	2.0	1.3	6.2	0.3	8.0	7.0
<i>C. rubens</i> x <i>C. rosea</i>	2.0	1.8	6.9	0.4	9.5	8.4
<i>C. rosea</i> x <i>C. rubens</i>	2.0	1.6	6.3	0.4	8.7	7.2
<i>C. vestita</i> x <i>C. cardioglossa</i>	2.0	1.6	6.0	0.3	9.0	7.2
<i>C. cardioglossa</i> x <i>C. vestita</i>	2.0	1.4	5.5	0.3	8.3	6.9
<i>C. sylvatica</i> x <i>C. vestita</i>	2.9	1.9	4.5	0.4	9.3	6.8
<i>C. sylvatica</i> x <i>P. tankervilleae</i> var. <i>alba</i>	4.4	1.8	4.7	0.4	8.9	8.3



ภาพที่ 2 ลักษณะของลูกผสมของกล้วยไม้สกุลคาแลนเธที่ปลูกในโรงเรือนเพาะชำ ก: *C. vestita* (CVT 01) ผสมตัวเองที่พร้อมออกปลูก ข: ลูกผสม *C. rubens* x *C. rosea* ที่พร้อมออกปลูก ค: ลูกผสม *C. rubens* x *C. rosea* อายุ 3 เดือน ง: ลูกผสม *C. sylvatica* x *P. tankervilleae* var. *alba* ที่พร้อมออกปลูก จ: ลูกผสม *C. sylvatica* x *P. tankervilleae* var. *alba* หลังออกปลูก 1 เดือน ฉ: ลูกผสม *C. sylvatica* x *P. tankervilleae* var. *alba* อายุ 3 เดือน

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลคาแลนเธโดยการผสมพันธุ์ ได้กล้วยไม้ผสมตัวเอง 2 ชนิด ได้แก่ *C. rubens* (CRU 06) และ *C. vestita* (CVT 01) กล้วยไม้ผสมข้ามชนิด 5 คู่ผสม ได้แก่ ได้แก่ *C. rubens* x *C. rosea*, *C. rosea* x *C. rubens*, *C. vestita* x *C. cardioglossa*, *C. cardioglossa* x *C. vestita* และ *C. sylvatica* x *C. vestita* และกล้วยไม้ผสมข้ามสกุล 1 คู่ผสม ได้แก่ *C. sylvatica* x *P. tankervilleae* var. *alba* ฝักกล้วยไม้ที่นำมาเพาะเลี้ยงมีอายุ 60-80 วัน เมล็ดงอกเป็นจุดสีเขียวหลังเพาะเลี้ยงประมาณ 40-70 วัน เมล็ดพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่สมบูรณ์หลังจากเมล็ดงอก 40-60 วัน ต้นอ่อนเจริญเป็นต้นและเกิดใบอ่อนหลังจากย้ายโปรโตคอร์ม 60-80 วัน ต้นอ่อนเจริญเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์เกิดหัวและใบจริงประมาณ 180-200 วัน จึงนำออกปลูกในโรงเรือน แต่ทยอยตายเรื่อยๆ จนกว่าต้นจะแข็งแรง ต้นกล้าลูกผสมกล้วยไม้สกุลคาแลนเธอายุประมาณ 1-3 เดือน มีใบ 2-4 ใบ ความกว้างใบ 1.2-1.9 ซม. ความยาวใบ 4.5-6.9 ซม. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.4 ซม. ความสูงต้นรวบใบ 7.8-9.5 ซม. และความกว้างทรงพุ่ม 6.7-8.4 ซม. ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาการเจริญเติบโตและการออกดอกของลูกผสมกล้วยไม้สกุลคาแลนเธต่อ เพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมและได้ลูกผสมกล้วยไม้สกุลคาแลนเธที่มีลักษณะดีและมีความหลากหลายทางสายพันธุ์สำหรับการผลิตกล้วยไม้กระถางพันธุ์การค้า

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลคาแลนเธโดยการผสมพันธุ์ เพื่อจะได้นำวิธีการและเทคนิคที่ได้ไปปรับใช้หรือเป็นแนวทางในการศึกษาการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลคาแลนเธหรือกล้วยไม้สกุลอื่นๆต่อไป เพื่อให้ได้กล้วยไม้ที่มีลักษณะดีและมีความหลากหลายทางสายพันธุ์สำหรับการผลิตกล้วยไม้กระถางพันธุ์การค้า

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตรที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และปัจจัยการผลิต ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ช่วยปฏิบัติงานทดลองให้สำเร็จได้ด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

ครรรชิต ธรรมศิริ. 2550. ปรับปรุงครั้งที่ 2. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. สำนักพิมพ์อัมรินทร์พรินต์ติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 283 น.

จารุวรรณ สุขเกษม. 2550. การศึกษาลักษณะและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องน้ำต้น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 89 หน้า.

มาลินี อินทร์วงศ์. 2553. ความสามารถในการผสมข้ามหมู่ของกล้วยไม้สกุลหวายของไทยและหวายพันธุ์การค้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 87 หน้า.

ศิวพร แก้วชุ่มชื่น. 2554. ความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' และลูกผสมสี่เหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 78 หน้า.

อดิสร กระแสชัย. 2547. บทที่ 8 การปรับปรุงพันธุ์พืช น. 112-127. ใน วิถัน บัณฑิตย์, เอกสารประกอบการสอนหลักการพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

อรอนงค์ วงศ์น่าน. 2553. ความสามารถในการผสมข้ามหมู่ของกล้วยไม้สกุลเข็มบีเดียบบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 85 หน้า.

13. ภาคผนวก

ตารางที่ 1 สูตรอาหารของ Vacin and Went (1949)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (g/l)
Stock solution A (10X)	
(NH ₄) ₂ SO ₄	5.0
Ca ₃ (PO ₄) ₂	2.0
MgSO ₄ 7H ₂ O	2.5
KH ₂ PO ₄	2.5
KNO ₃	5.25

Stock solution B (200X)	
Na ₂ EDTA	7.5
Fe ₂ SO ₄ 7H ₂ O	5.57
Stock solution C (100X)	
MnSO ₄ H ₂ O	0.075 (g/100ml)